

**Untersuchungen zur vereinfachten Handhabung
der Leberperfusion, zugleich ein Beitrag
der Wechselbeziehungen
zwischen einzelnen Substratspiegeln**

Christoph Koppenwallner

—
1975

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. E. Buchborn

Untersuchungen zur vereinfachten Handhabung
der Leberperfusion, zugleich ein Beitrag der
Wechselbeziehungen zwischen einzelnen Substrat-
spiegeln

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt
von
Christoph Koppenwallner
aus München

München 1975

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.Doiz.Dr.P.Dieterle

Mitberichterstatter: Prof.Dr.E.Buchborn

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4.2.1975



Inhaltsverzeichnis

	Seite
Liste der Abkürzungen	4
I. Einleitung	5
II. Versuchsanordnung	
1. Aufbereitung des Perfusionsmediums	6
2. Präparationstechnik	7
3. Prinzip des rezirkulierenden Systems	9
4. Entnahme der Proben	10
III. Meßmethoden	
1. Bestimmung der Freien Fettsäuren	11
2. Bestimmung des Glycerins	11
3. Bestimmung von Glucose, Lactat, Acetacetat und β -Hydroxybutyrat	11
4. Berechnungen	12
IV. Das Redoxgleichgewicht der Mitochondrien und	
1. Freie Fettsäurekonzentration	13
2. Lactatbilanz der Leber	13
3. Glucoseabgabe der Leber	16
V. Wechselbeziehungen von Substratspiegeln	
1. Lactat und Freie Fettsäuren	19
2. Freie Fettsäuren und Glycerin	21
3. Freie Fettsäuren und Glucose	24
4. Glucoseabgabe der Leber $\pm$ Glycerin und Lactat	26
VI. Diskussion	28
VII. Zusammenfassung	31
VIII. Tabellen	32
IX. Literaturverzeichnis	44
Lebenslauf	47

Liste der Abkürzungen

AcAc	Acetacetat
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
β -Hob	β -Hydroxybutyrat
FAD	Flavinadenindinucleotid
FFS	Freie Fettsäuren
NAD	Nicotinamidadenindinucleotid
NADP	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat

I. Einleitung

Ziel der Arbeit war, den Aufwand einer Leberperfusion in technischer, personeller und finanzieller Hinsicht zu reduzieren, ohne aber den Funktionszustand der perfundierten Leber zu beeinträchtigen.

Ausgangspunkte waren, die Rattenleber mit einem rezirkulierenden Medium zu perfundieren, als Sauerstoffträger sollte nicht mehr benötigtes menschliches Konservenblut verwendet werden, für einen ausreichenden onkotischen Druck sollte nicht dialysiertes Rinderalbumin in einer Konzentration von mindestens 2 g% dienen. Unter diesen Bedingungen sollte das Verhalten von Lactat, Glucose, FFS und Glycerin verfolgt werden.

Als Parameter für den Funktionszustand der Leber wählten wir das Redoxgleichgewicht in den Mitochondrien, d.h. den Quotienten aus β -Hob und AcAc. Wird dieser Quotient während der Perfusion kleiner 1, so liegt das Redoxgleichgewicht auf der mehr oxydierten Seite, was als Beweis der funktionellen Integrität der Leber gewertet wird (10,12).

II. Versuchsanordnung

1. Aufbereitung des Perfusionsmediums

Mit der Zusammensetzung des Perfusionsmediums ergab sich das Problem der optimalen Sauerstoffversorgung, deren Qualität an Hand des Redoxgleichgewichtes abgelesen werden kann. Das O_2 -Angebot hängt im wesentlichen ab vom Hämatokrit und der Stromstärke, also von der Größe der Leberdurchblutung. Die Stromstärke wiederum ist eine Funktion des Perfusionsdruckes und der Viskosität des Perfusionsmediums. Je höher die Viskosität war, um so eher kam es bei unseren Versuchen zur Thrombosierung. Bei einem Hämatokrit von 15% traten binnen kurzem gelbliche Flecken an der Leberoberfläche auf und die Leberdurchblutung versiegte. Bei einem Perfusionsdruck über 40 cm Wassersäule wurde die Leber ödematös und der Gallefluß kam zum Stillstand.

Der entscheidende Einfluß der Sauerstoffversorgung auf das Redoxgleichgewicht läßt sich an den in 12 Tabellen zusammengefaßten Versuchen verfolgen. Ein Hämatokrit um 8% bei einem Perfusionsdruck von 15-20 cm H_2O (Tab.1,2) konnte den Redoxquotienten nicht unter 1 senken. Auch die Erhöhung des Perfusionsdruckes auf 20-30 cm H_2O (Tab.3,4) reichte dazu nicht aus. Erst mit einem Hämatokrit um 11% bei einem Perfusionsdruck von 20-30 cm H_2O wurde der Redoxquotient während der Perfusion kleiner 1 (Tab.5-7,9-12).

Folgende Zusammensetzung schien uns in Hinblick auf den Funktionszustand der Leber gute Bedingungen zu bieten (Tab.5-12): Auf 68,5 ml Konservenblut wurden 1,5 ml Liquemin (d.h. 6000 I.E. Heparin) sowie 180 ml Krebs-Ringer-Bicarbonat-Lösung (13) zugesetzt. In diese Lösung wurden langsam 5g Rinderalbumin eingeührt, 180 mg Glucose hinzugegeben und der pH mittels pH-Meter und einigen Tropfen 1n NaOH auf pH 7,4 eingestellt. Damit lag der Hämatokrit um 11%, die Albuminkonzentration über 2 g%, die Glucosekonzentration schwankte zwischen 95 mg% und 125 mg%, je 100 ml Perfusionsmedium waren mit 2400 I.E.

Heparin liqueminisiert.

100 ml dieser Aufbereitung wurden sofort in der Perfusionskammer an den Rezirkulationskreislauf angeschlossen. Die restlichen 150 ml wurden in eine Infusionsflasche gefüllt und zur Perfusion der Leber während der Präparation verwendet.

Der Vorteil der geschilderten Zusammensetzung des Perfusionsmediums liegt in dem relativ geringen Aufwand. Ein Nachteil besteht in den trotz Heparinisierung immer wieder auftretenden Thrombosierungen, womit zahlreiche Versuche wertlos wurden.

2. Präparationstechnik

Gefütterte Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 150 bis 200 g wurden mit Äther in einer abgedeckten Glasschale in einen rauschartigen Zustand versetzt und sodann mit 0,1 ml Nembutal pro 100 g Körpergewicht durch intraperitoneale Injektion narkotisiert. In eine freigelegte Femoralvene wurde 0,1 ml Heparin injiziert, der Schnitt mit einer gebogenen Klemme zusammengehalten. Das Abdomen wurde längs der linea alba eröffnet, beidseits wurden Schnitte entlang der Rippenbogen nach dorsal gelegt, der Darm wurde vom Präparator aus gesehen nach rechts verlagert und mit einem feuchten Tuch abgedeckt.

Mit gebogenen spitzen Pinzetten wurden Fäden um folgende Gänge und Gefäße gelegt (Abb.1):

1. die vena cava inf. proximal der Einmündung der rechten vena renalis,
2. die vena porta proximal der einmündenden Gefäße zweimal,
3. die vena porta distal der einmündenden Gefäße,
4. die in die vena porta einmündenden Gefäße,
5. den Gallengang.

Der Gallengang wurde distal des Fadens 5 angeschnitten und kanüliert, Faden 5 dann geknotet. Bei 4 und 3 wurden Ligaturen gelegt, die Pfortader angeschnitten und sofort Kanüliert.

Der Pfortaderkatheter war an eine Infusionsflasche mit 150 ml

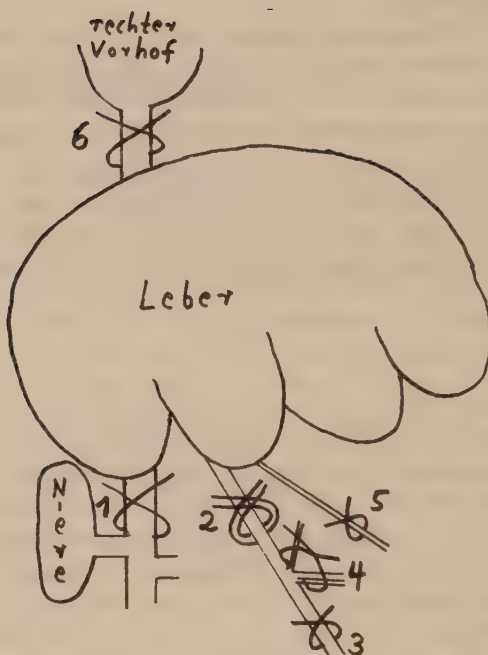


Abb.1: Präparationssitus, Erläuterung siehe Text

Perfusionsmedium angeschlossen (II 1). Nach Knüpfen des ersten Fadens bei 2 wurde die Leber mit einer Tropfgeschwindigkeit von 10 Tropfen pro 3 Sekunden bei einem Druck von 30 cm Wassersäule perfundiert, darauf der zweite Faden bei 2 geknüpft. Für die Leber bestand somit nur eine wenige Sekunden dauernde hypoxämische Phase. Zur Vermeidung einer Volumenüberlastung des Herzens wurden alle Gefäße des Retroperitonealraumes durchtrennt.

Nun wurde die Leber unter Freilegung von Herz und Lunge vom Diaphragma getrennt, und bei 6 zwischen vena cava sup. und rechtem Vorhof ein Faden gelegt. Der rechte Vorhof wurde eröffnet und die vena cava sup. kanüliert, um einen ungehinder-

ten Abfluß aus der Leber zu ermöglichen.

Die Ratte wurde oberhalb der Leber quer durchschnitten und der Faden bei 1 geknüpft. Unter Zuhilfenahme von als Leberhacken umfunktionierten Lidhacken wurde die Leber distal der unterbundenen Gefäße von Herz, Ösophagus, Magen und Milz abgetrennt und an das laufende System angeschlossen.

3. Prinzip des rezirkulierenden Systems (Abb.2)

In der feuchten Perfusionskammer herrschte konstant 37°C . Das aus der Leber abtropfende Perfusionsmedium wurde von einem Glasgefäß aufgefangen. Ein Magnetrührer sorgte für eine gleichmäßige Konzentration in dem Gefäß. Von diesem Auffanggefäß führte ein Plastikschlauch über eine Rollpumpe zu einem Kugelzylinder, der im Gegenstrom von Carbogen, d.h. 96% O_2 und 4% CO_2 , durchströmt wurde. Vor dem Kugelzylinder wurde das Gasgemisch zur Anfeuchtung durch Wasser geleitet.

Der Kugelzylinder, die „Lunge“ des Systems, war in der Höhe verstellbar, sodaß der Durchfluß von 1,5–2 ml pro Gramm nasser Leber und Minute (Tab.3–12) konstant gehalten werden konnte. Dabei betrug der Perfusionsdruck 20–20 cm Wassersäule. Mittels einer Klemmè zwischen Rollpumpe und Kugelzylinder wurde die Feinregulation des Zuflusses vorgenommen. Vom Kugelzylinder führte ein Plastikschlauch zum Pfortaderkatheter. Die produzierte Galle wurde über den Gallengangkatheter abgeleitet. Der Gallenfluß lag bei 0,4–0,8 ml pro Stunde.

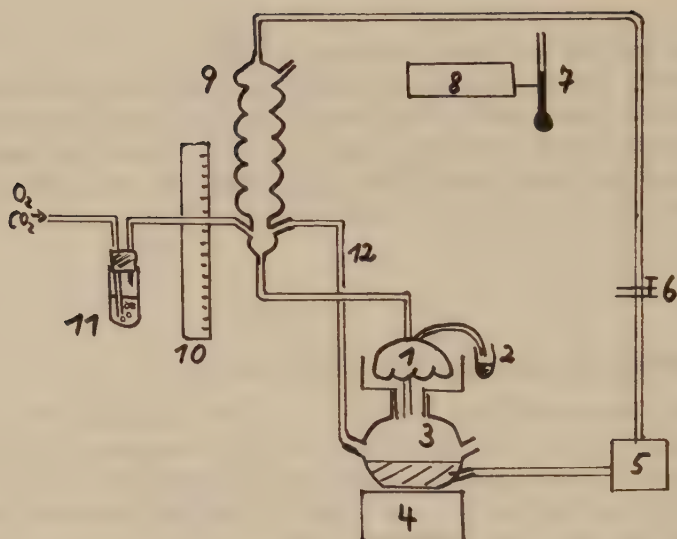


Abb.2: Prinzip des rezirkulierenden Systems

1 Leber, 2 Abfluß der Galle, 3 Auffanggefäß, 4 Magnetrührer, 5 Rollpumpe, 6 Klemme, 7 Thermometer, 8 Thermostat, 9 Kugelszylinder, 10 Zentimetermaß, 11 Anfeuchtung von Carbogen, 12 Überlauf

4. Entnahme der Proben

Bis zur 90. Minute wurden alle 10-20 Minuten je 5 ml Perfusionsmedium dem Auffanggefäß entnommen. 1 ml wurde sofort in vorbereitete eisgekühlte, 4% Perchlorsäure enthaltende Reagenzgläser zur Enteiweißung pipettiert, aus dem Überstand bestimmten wir Lactat, Glucose, AcAc und β -Hob. Aus dem Serum der restlichen 4 ml wurden die FFS und Glycerin bestimmt.

III. Meßmethoden

1. Bestimmung der FFS

Die FFS im Serum wurden nach der von Duncombe angegebenen Methode bestimmt (4). Die Methode erfaßt nur die physiologisch wichtigen langkettigen FFS. Obwohl wir durch Bestimmung des Hämatokrits vor und nach der Perfusion keine signifikante Hämolyse feststellen konnten, mußten die bekannten Störfaktoren wie Hämolyse oder hohe Konzentration von Gallensäuren durch Zugabe von 1 ml eines 1m Phosphatpuffers ausgeschaltet werden (3).

Prinzip: Die FFS werden als Kupfersalze mit Chloroform aus dem Serum mit Hilfe einer dreidimensionalen Schüttelmaschine extrahiert. Die Kupferseifen werden mit Diäthylthiocarbaminat in einen Kupferkomplex überführt und kolorimetrisch bestimmt. Als Standard läuft eine 400 μ -molare Palmitinlösung mit, deren Extinktion über einen einfachen Dreisatz die Berechnung der Proben erlaubt. Der Variationskoeffizient beträgt 2,7%.

2. Bestimmung des Glycerins

Die Bestimmung des Glycerins erfolgte nach Angaben von Kreutz (8).

Prinzip: Glycerin wird mittels ATP und Glycerokinase in Glycero-phosphat überführt. Das anfallende ADP reagiert mit Phosphoenolpyruvat und Pyruvatkinase unter Bildung von ATP und Pyruvat. Pyruvat wird durch die Lactatdehydrogenase und NADH zu Lactat reduziert. Die photometrisch gemessene Abnahme von NADH entspricht äquimolar dem vorhandenen Glycerin.

3. Bestimmung von Glucose, Lactat, AcAc und B-Hob

In einem Eiswasserbad standen vorbereitete Reagenzgläser mit 3 ml 4% Perchlorsäure. In diese wurde je Probeentnahme 1 ml

Perfusionsmedium einpipettiert. Nach Zentrifugieren und Abgießen des Überstandes wurde dieser mit 0,13 ml 5n KOH auf pH 5 und darauf mit einer Spatelspitze Kaliumhydrogencarbonat auf pH 7 gebracht. Nach erneutem Zentrifugieren wurde der Überstand wieder in ein Eiswasserbad gestellt und daraus Glucose, Lactat, AcAc und β -Hob bestimmt.

Prinzip der

a) Glucosebestimmung (11):

Glucose wird mittels Hexokinase und ATP in Glucose-6-Phosphat überführt. Die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase oxydiert Glucose-6-Phosphat an der 1-Stellung, der Wasserstoff wird auf NADP übertragen. Der Zuwachs von 1 Mol NADPH entspricht stöchiometrisch 1 Mol Glucose.

b) Lactatbestimmung (6):

Lactat wird durch die Lactatdehydrogenase und NAD zu Pyruvat oxydiert. Der NADH-Anstieg entspricht äquimolar der Lactatmenge.

c) AcAc-Bestimmung (9):

Die β -Hob-Dehydrogenase und NADH reagieren mit AcAc, wobei die Abnahme von NADH äquimolar dem AcAc entspricht.

d) β -Hob-Bestimmung (16):

Die β -Hob-Dehydrogenase überführt mit Hilfe von NAD β -Hob in AcAc, wobei äquimolar NADH anfällt.

4. Berechnungen

Alle Bestimmungen wurden als Doppelversuche durchgeführt.

Konzentrationsänderungen wurden unter Berücksichtigung der Verminderung des Volumens quantitativ umgerechnet, bezogen auf 1 Gramm nasse Leber und Stunde.

Um eine gleichmäßige Äquilibrierung zu gewährleisten, wurden die Ergebnisse der ersten 10 Minuten nach Perfusionsbeginn nicht berücksichtigt. Aus dem selben Grund gingen die unmittelbar dem Lactatzusatz zum Perfusionsmedium folgenden Ergebnisse (Tab. 2-6) nicht in die Berechnung ein.

IV. Das Redoxgleichgewicht der Mitochondrien und

1. FFS-Konzentration

Da 2 g% nicht dialysiertes Rinderalbumin dem Perfusionsmedium zugesetzt wurden, lagen die an Albumin gebundenen FFS als Substrat vor. Zu Perfusionsbeginn schwankte die FFS-Konzentration zwischen 370 und 705 μ val/l.

Bei 5 Versuchen wurde während der 90 minütigen Perfusion der Quotient des Redoxgleichgewichtes kleiner 1 (Tab. 7, 9-12). Da wir damit eine suffiziente Sauerstoffversorgung der Leber unterstellen konnten, bestimmten wir bei diesen Versuchen die FFS-Konzentration. In zwei weiteren Versuchen sank der Redoxquotient ebenfalls unter 1 (Tab. 5, 6), da aber die FFS ohne Phosphatpuffer gemessen wurden, werden diese Ergebnisse nicht aufgeführt.

Daß FFS das Redoxgleichgewicht mehr auf die reduzierte Seite verschieben, ist bekannt (10, 14). Gleiches konnten auch wir beobachten (Abb. 3). Mit der Zunahme der FFS-Konzentration im Perfusionsmedium stieg auch der Redoxquotient an. Aus den Tab. 7, 9-12 ist auch ersichtlich, daß der Redoxquotient um so eher unter 1 fiel, je niedriger die FFS-Konzentration zu Perfusionsbeginn war. Aus Abb. 3 meinen wir zudem den Schluß ziehen zu können, daß ein Redoxquotient von über 1 nicht zwangsläufig Zeichen einer Hypoxie sein muß.

2. Lactatbilanz der Leber

Von Beginn der Aufbereitung des Perfusionsmediums bis zum Einbringen der Leber in die Perfusionskammer verstrichen mindestens 1,5 Stunden. Da in dieser Zeit die Erythrozyten einen Teil der Glucose zu Lactat abbauten, lag die Lactatkonzentration bei Perfusionsbeginn immer über 20 mg%. Bei einigen Ver-

Redoxgleichgewicht $\frac{B-Hob}{AcAc} \frac{\mu mol/l}{\mu mol/l}$

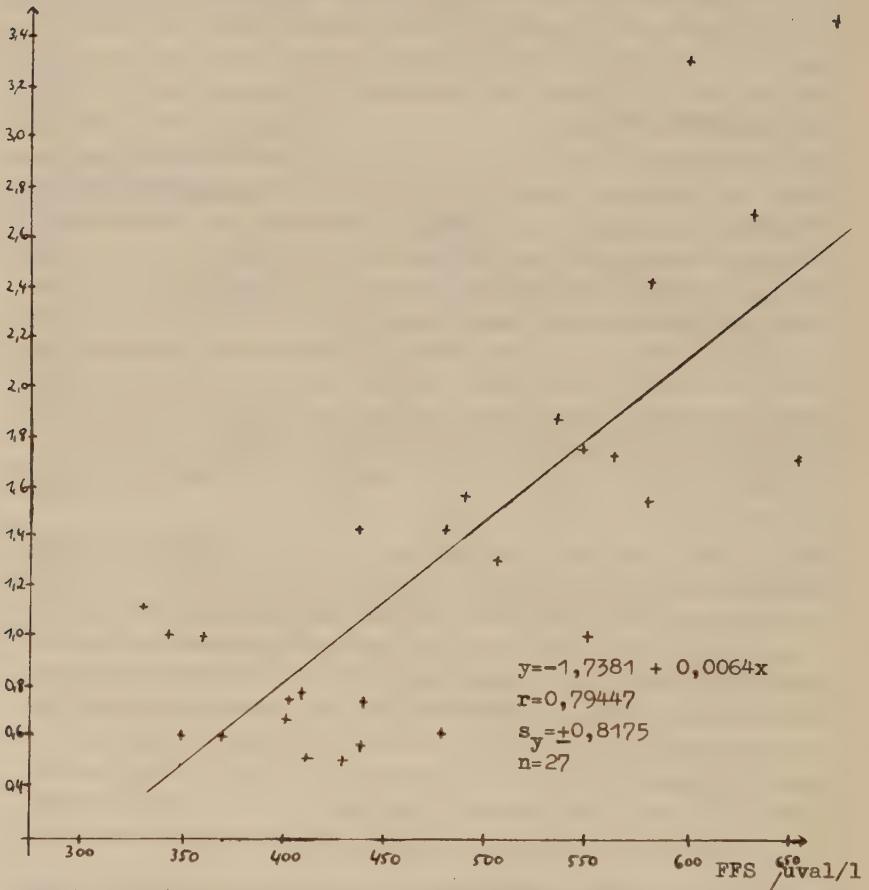


Abb.3: FFS-Konzentration und Redoxgleichgewicht

Beim Vorliegen höherer FFS-Konzentrationen liegt das Redoxgleichgewicht auf der mehr reduzierten Seite.



suchen wurde zudem nach 40 Minuten noch Lactat dem Perfusionsmedium zugesetzt (Tab.2-6).

Die Versuche, bei denen der Redoxquotient während der Perfusion unter 1 sank (Tab.5-7,9-12), zeigten neben der Aufnahme von Lactat durch die Leber auch eine Abgabe von Lactat aus der Leber. Ähnliche Beobachtungen konnten wir auch bei den Versuchen machen, bei denen der Redoxquotient während der Perfusion nicht kleiner 1 wurde. Deshalb interessierte die Frage, ob das Redoxgleichgewicht Einfluß auf die Lactataufnahme bzw. -Abgabe durch die Leber nimmt.

Wie Abb.4 zeigt, nahm unter unseren Versuchsbedingungen die Leber nahezu immer Lactat aus dem Perfusionsmedium auf, sobald der Redoxquotient unter 1,25 lag. War der Redoxquotient größer als 1,25, so hielten sich Aufnahme und Abgabe von Lactat durch die Leber die Waage.

Auch die Versuche, bei denen während der Perfusion der Redoxquotient nicht unter 1 sank, wiesen keine Tendenz einer überwiegenden Lactatabgabe aus der Leber auf. Deshalb meinen wir, aus dem Verhalten von Lactat keine Rückschlüsse auf die Sauerstoffversorgung der Leber ziehen zu können. Einen Versuch der Erklärung für das unterschiedliche Verhalten von Lactat oberhalb eines Redoxquotienten von 1,25 auch bei den Versuchen, bei denen der Redoxquotient im Verlauf der Perfusion unter 1 sank (Abb.4), unternehmen wir in Abschnitt V1.

3.Glucoseabgabe der Leber

Während der Perfusion beobachteten wir einen fast konstanten Ausstrom von Glucose aus der Leber.

Die Versuche, bei denen der Redoxquotient während der Perfusion unter 1 fiel (Tab.5-7,9-12), zeigten einen deutlichen Zusammenhang von Glucoseabgabe aus der Leber und dem aktuellen Redoxquotienten. Je weiter das Redoxgleichgewicht auf der mehr reduzierten Seite lag, um so mehr Glucose wurde aus der Leber

Redoxgleichgewicht $\frac{\beta\text{-Hob}}{\text{AcAc}} \frac{\mu\text{mol/l}}{\mu\text{mol/l}}$ 17

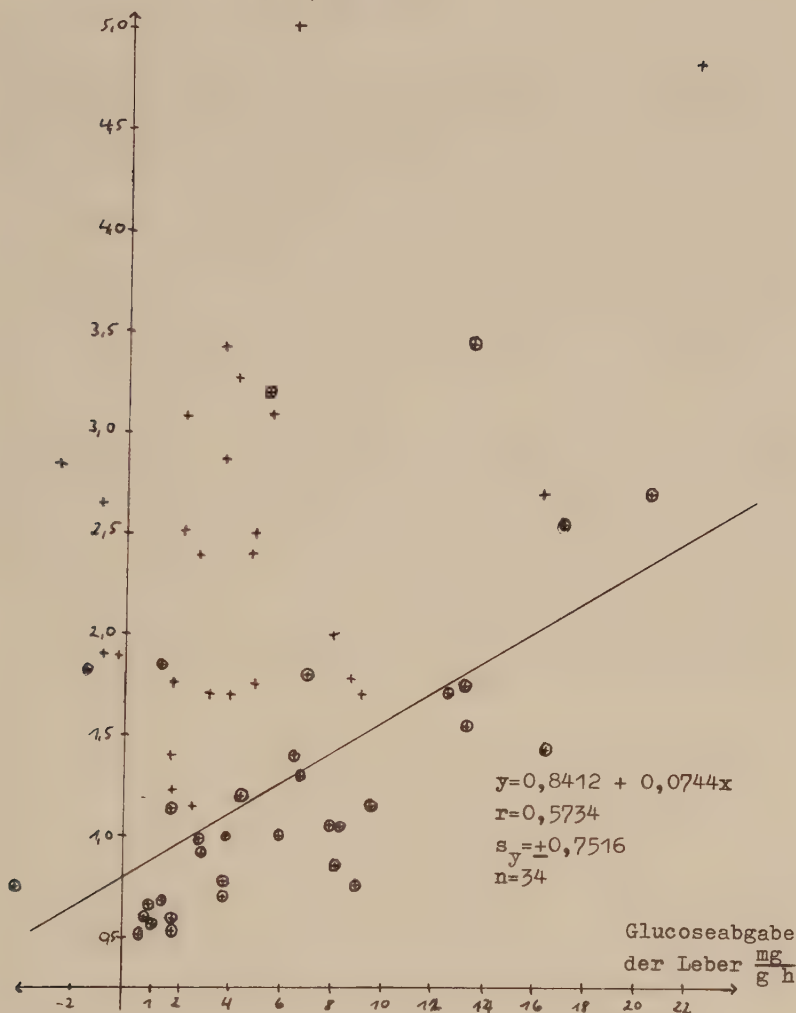


Abb.5: Glucoseabgabe der Leber und Redoxgleichgewicht

⊕ Ergebnisse von Versuchen, bei denen der Redoxquotient während der Perfusion kleiner 1 wurde ($n=34$). Je weiter das Redoxgleichgewicht auf der reduzierten Seite liegt, um so mehr Glucose gibt die Leber ab.

+ Ergebnisse von Versuchen, bei denen der Redoxquotient nicht unter 1 sank ($n=27$). Ein Zusammenhang von Redoxquotient und Glucoseabgabe der Leber liegt nicht vor.

freigesetzt(Abb.5).

Die Versuche, bei denen der Redoxquotient während der Perfusion nicht unter 1 zu liegen kam (Tab.1-4,8), ließen keinen Zusammenhang von aktuellem Redoxquotienten und Glucoseabgabe aus der Leber erkennen.

V. Wechselbeziehungen von Substratspiegeln

1. Lactat und FFS-Konzentration

Vier Versuche, bei denen neben Lactat auch die FFS bestimmt wurden, hatten mit $35,9 \text{ mg\%} \pm 3,85 \text{ mg\%}$ ($\bar{x} \pm \text{S.E.}$) vergleichbare Ausgangskonzentrationen für Lactat (Tab.9-12). Die FFS-Konzentration schwankte bei Perfusionsbeginn zwischen 370 und 705 $\mu\text{val/l}$. Das Redoxgleichgewicht verschob sich während der Perfusion auf die mehr oxydierte Seite.

Der Einfluß der aktuellen FFS-Konzentration auf die Lactatkonzentration ist aus Abb.6 ersichtlich. Höhere FFS-Konzentrationen bewirken ein Ansteigen der Lactatkonzentration im Perfusionsmedium, niedrigere FFS-Konzentrationen hatten eine Abnahme der Lactatkonzentration im Perfusionsmedium zur Folge. Mit einer entsprechenden Korrelation von $r = -0,51$ verhielt sich die Lactatbilanz (Abb.7). Bei niedrigeren FFS-Konzentrationen nahm die Leber verstärkt Lactat aus dem Perfusionsmedium auf, höhere FFS-Konzentrationen verstärkten die Tendenz zur Abgabe von Lactat aus der Leber.

Das Lactatverhalten hing somit einerseits von der aktuellen FFS-Konzentration ab. Andererseits nahm die Leber nahezu einheitlich Lactat aus dem Perfusionsmedium auf, wenn der Redoxquotient unter 1,25 lag (IV2). Zwischen dem Redoxquotienten und der aktuellen FFS-Konzentration bestand eine lineare Abhängigkeit (IV2). Das unterschiedliche Verhalten von Lactat bei einem Redoxquotienten von über 1,25 (Abb.3) könnte so interpretiert werden, daß neben der Sauerstoffversorgung der Leber auch die Höhe der FFS-Konzentration im Perfusionsmedium Einfluß auf die Lactataufnahme bzw. -Abgabe der Leber nimmt. Diese Vermutung wird durch eine weitere Beobachtung verstärkt. Es wäre zu erwarten, daß eine lineare Abhängigkeit von Lactatkonzentration im Perfusionsmedium und Lactataufnahme durch die Leber besteht. Unter unseren Versuchsbedingungen war dies nicht der Fall. Selbst

Lactatkonzentration
im Perfusionsmedium mg%

20

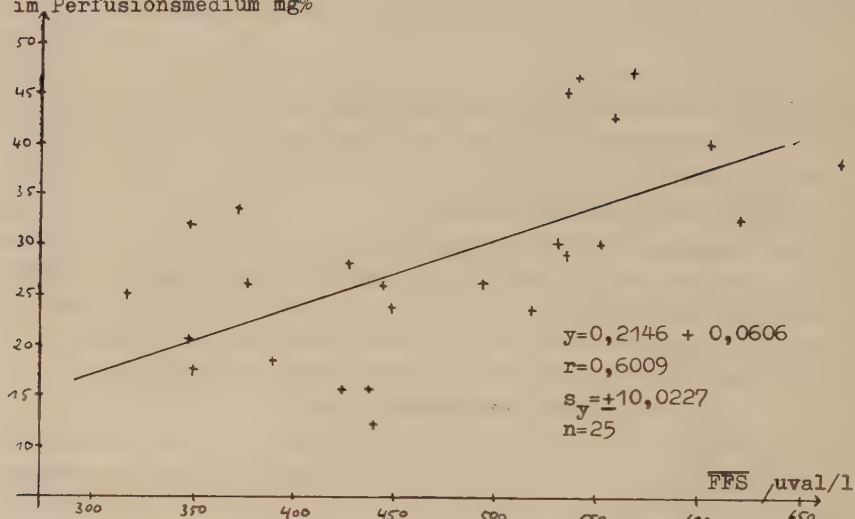
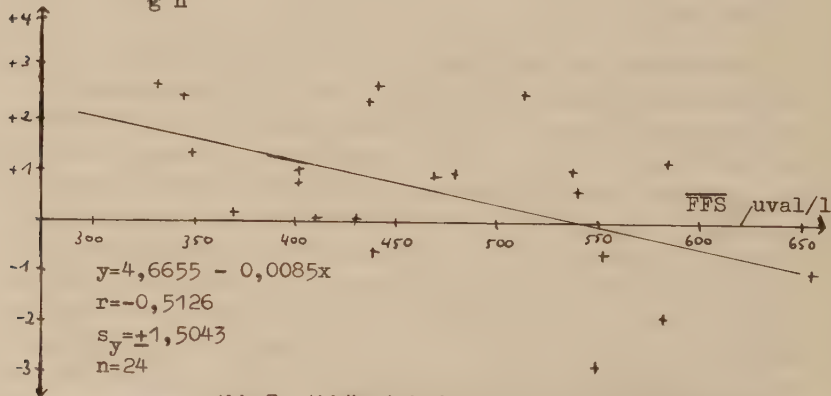


Abb.6: Abhängigkeit der Lactatkonzentration von der aktuellen FFS-Konzentration bei einer Lactatausgangskonzentration von $35,9 \text{ mg\%} \pm 3,85 \text{ mg\%}$ ($\bar{x} \pm \text{S.E.}$).

Lactataufnahme
der Leber $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$



Lactatabgabe
der Leber $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$

Abb.7: Abhängigkeit der Lactataufnahme bzw. -Abgabe der Leber von der FFS-Konzentration im Perfusionsmedium. Lactatausgangskonzentration wie in Abb.6.

als der Redoxquotient unter 1,25 lag und die Leber nahezu einheitlich Lactat aus dem Perfusionsmedium aufnahm, konnte an Hand von 23 Einzelwerten und einer Lactatkonzentration zwischen 12,8 mg% und 96,8 mg% kein Zusammenhang von Lactatkonzentration und Lactataufnahme der Leber festgestellt werden. Der Schluß liegt nahe, dies auf differgente FFS-Konzentrationen, auf gleiche Lactatkonzentrationen bezogen, zurückzuführen.

2.FFS und Glycerin

Bei 5 Versuchen wurden FFS und Glycerin bestimmt (Tab.7,9-12). Der Redoxquotient kam während der Perfusion unter 1 zu liegen.

C.M.Clark et al. berichteten, daß im nicht rezirkulierenden System die FFS-Aufnahme der Leber der FFS-Konzentration direkt proportional ist (2).

Wir konnten beobachten, daß auch im rezirkulierenden System eine lineare Funktion zwischen FFS-Aufnahme und FFS-Konzentration besteht (Abb.8). Außerdem fanden wir, daß bei unseren Versuchsbedingungen unterhalb einer FFS-Konzentration von 413 μ mol pro Liter FFS von der Leber ins Perfusionsmedium abgegeben wurden. Unter der Fragestellung, ob die FFS-Abgabe aus der Leber über eine gesteigerte Lipolyse der Lebertriglyceride erfolgt, wurde das Verhalten von Glycerin verfolgt.

Während eines jeden Versuches stieg die Glycerinkonzentration nahezu kontinuierlich an. Bei der quantitativen Berechnung für Glycerin traten in den Zeiträumen der einzelnen Probeentnahmen nur Änderungen im 1/10 μ molaren Bereich pro Gramm nasser Leber und Stunde auf. Deshalb unterteilten wir den zeitlichen Verlauf eines jeden Versuches nach folgendem Kriterium: Wann erfolgt die Umschaltung von FFS-Aufnahme auf FFS-Abgabe und umgekehrt. Diesen Zeitabschnitten von FFS-Aufnahme bzw. -Abgabe wurden die dazugehörigen Änderungen der Glycerinproduktion gegenübergestellt. Wie aus Abb.9 ersichtlich, bewirkt eine zunehmende FFS-Aufnahme der Leber eine vermehrte Glycerinabgabe.

FFS-Aufnahme

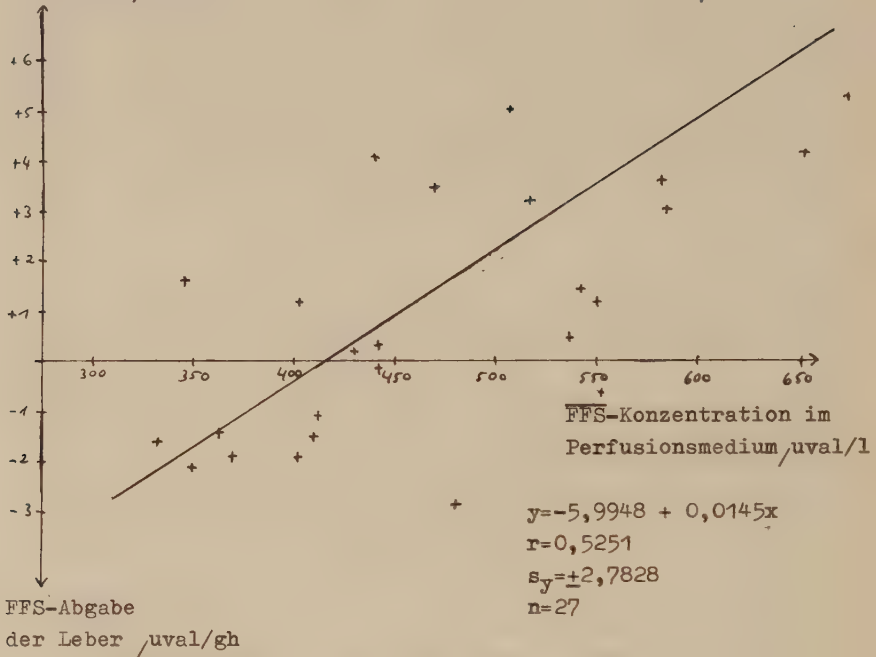
der Leber $\mu\text{val/gh}$ 

Abb.8: Die FFS-Aufnahme der Leber ist der FFS-Konzentration im Perfusionsmedium proportional. Unterhalb einer FFS-Konzentration von 413 $\mu\text{val/l}$ werden von der Leber FFS ins Perfusionsmedium abgegeben.

Glycerinabgabe der Leber $\frac{\mu\text{mol}}{\text{g h}}$

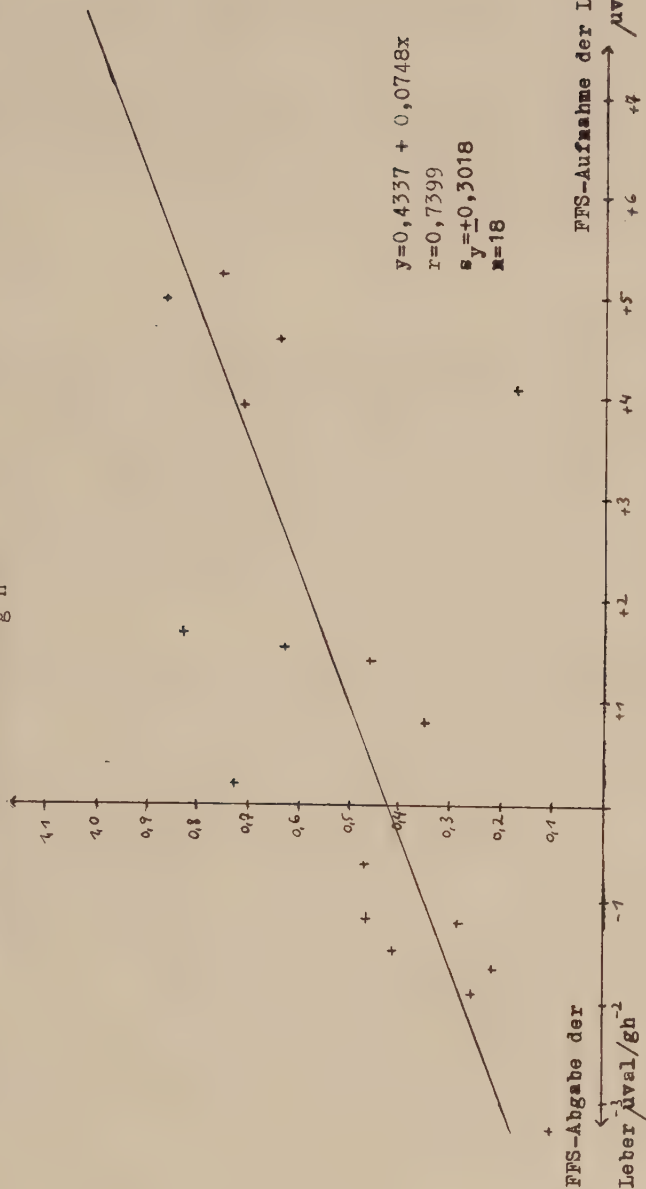


Abb. 9: Die Glycerinabgabe der Leber ist der FFS-Aufnahme der Leber proportional. Werden von der Leber FFS ins Perfusionsmedium abgegeben, so nimmt die Glycerinabgabe der Leber ab.

Je mehr FFS die Leber abgab, um so weniger Glycerin wurde freigesetzt.

Käme die FFS-Abgabe der Leber über eine gesteigerte Lipolyse der Lebertriglyceride zustande, so wäre ein genau gegenteiliges Verhalten von Glycerin zu erwarten. Der Nachweis einer vermehrten lipolytischen Aktivität bei der Abgabe von FFS aus der Leber konnte somit nicht erbracht werden.

3.FFS und Glucose

Daß FFS die Glucoseabgabe aus der Leber stimulieren, ist bekannt (10,12,14,15). Wir beobachteten bei Glucoseausgangskonzentrationen von 95-125 mg% einen nahezu stetigen Anstieg der Glucosekonzentration im Perfusionsmedium. Die Versuche, bei denen der Redoxquotient während der Perfusion unter 1 sank und die FFS Bestimmt wurden (Tab.7,9-12), ließen einen Zusammenhang von FFS-Aufnahme der Leber und Glucoseabgabe aus der Leber erkennen. Die FFS-Aufnahme der Leber war der Glucoseabgabe aus der Leber direkt proportional (Abb.10).

Der Stoffwechselweg, über den durch FFS eine Stimulation der Glucoseabgabe aus der Leber stattfindet, ist noch nicht völlig geklärt. Einige Untersucher sehen in den FFS Lieferanten von Energie und Reduktionsäquivalenten, die zur Gluconeogenese aus Prekursoren wie Lactat, Pyruvat, Alanin oder Glycerin nötig sind (10,12,14). Nicht alle Untersucher konnten bei der Stimulation der Glucoseabgabe aus der Leber durch FFS eine entsprechende gesteigerte Aufnahme eines Prekursors wie z.B. Lactat beobachten. Andere Autoren sehen in den FFS zusätzlich eine unmittelbare Substratquelle für die Gluconeogenese, sodaß die gesteigerte Glucoseproduktion direkt aus Oxydationsprodukten der FFS, wie z.B. Oxalacetat, stattfindet (15).

Um Hinweise zu erhalten, welcher dieser möglichen Stoffwechselwege unter unseren Versuchsbedingungen überwog, untersuchten wir das Verhalten von Glycerin und Lactat unter dem Gesichtspunkt der Glucoseabgabe aus der Leber.

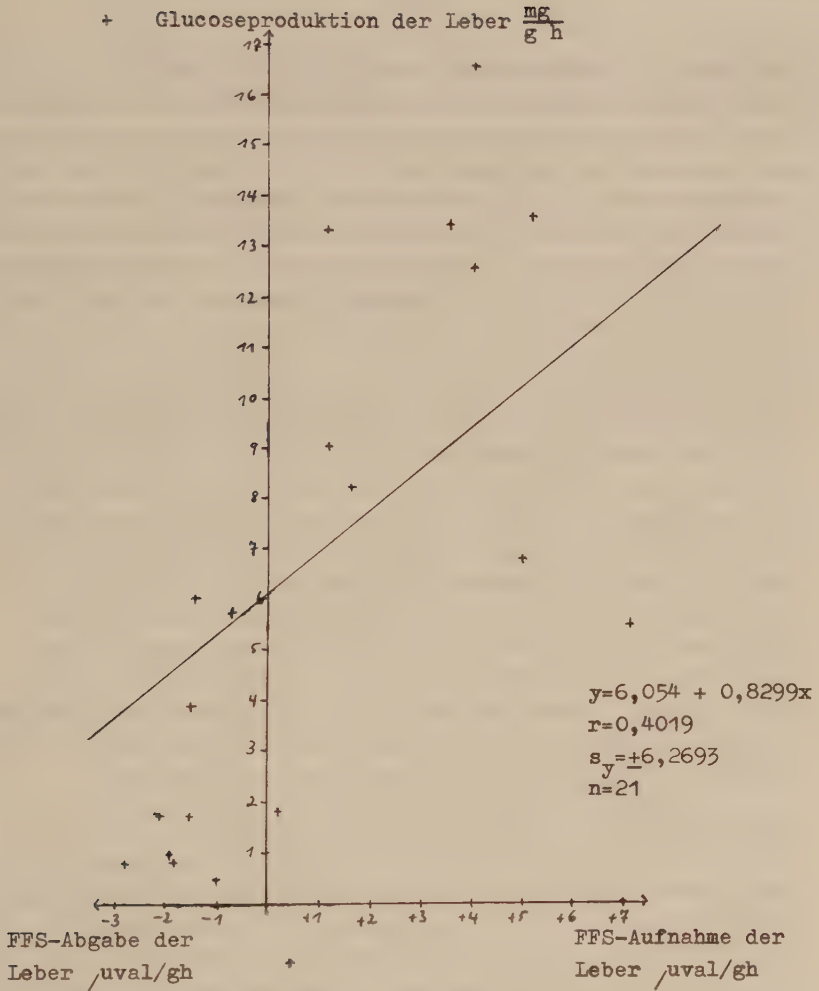


Abb.10: Mit vermehrter FFS-Aufnahme der Leber nimmt die Glucoseproduktion der Leber zu.

4. Glucoseabgabe aus der Leber - Glycerin und Lactat

Die Versuche, bei denen der Redoxquotient während der Perfusion unter 1 sank und deshalb neben den FFS auch Glycerin bestimmt wurde, zeigten einen nahezu kontinuierlichen Anstieg der Glycerinkonzentration im Perfusionsmedium (Tab. 7, 9-12). Mit einer Korrelation von $r=0,12$ ließ sich kein signifikanter Zusammenhang von Glucoseabgabe und Glycerinproduktion der Leber herstellen. Unter unseren Versuchsbedingungen konnte somit der Nachweis einer Gluconeogenese aus Glycerin nicht erbracht werden.

Auch aus der Gegenüberstellung von Lactataufnahme und Glucoseabgabe der Leber auf molarer Berechnung war - selbst bei einem aktuellen Redoxquotienten unter 1,25 - kein Hinweis einer vermehrten Glucoseabgabe der Leber mittels einer gesteigerten Lactataufnahme ersichtlich. Daß wir keine Korrelation zwischen Lactataufnahme und Glucoseproduktion der Leber erwarten konnten, zeichnete sich bereits in Abschnitt IV 2 und 3 ab. Einerseits nahm die Leber nahezu einheitlich Lactat aus dem Perfusionsmedium auf, sobald der Redoxquotient unter 1,25 lag. Andererseits wiesen die Versuche, bei denen sich das Redoxgleichgewicht während der Perfusion auf die mehr oxydierte Seite verschob (Tab. 5-7, 9-12), eine zunehmende Glucoseabgabe der Leber auf, wenn der Redoxquotient über 1,25 lag (Abb. 5).

Die Glucoseabgabe aus der Leber kann über mehrere Wege zustande kommen. Gut bekannt sind die Glycogenolyse und die Gluconeogenese aus Lactat, Pyruvat, Alanin und Glycerin. Zudem ist erwiesen, daß über ein Folgeprodukt der Veratmung von FFS, nämlich Oxalacetat, ein Weg zur vermehrten Glucoseproduktion der Leber führt (15). Unter unseren Versuchsbedingungen dürfte der Einfluß der FFS dominierend gewesen sein, da er nachweisbar war (Abb. 10).

Gleichzeitig mit einer Glucoseabgabe konnten wir auch eine Lactatabgabe aus der Leber beobachten. Bekannt ist, daß auch unter Bedingungen der Glucoseabgabe aus der Leber Glucose über die Glycolyse verwertet wird (5). Aus einer gleichzeitigen Ab-

gabe von Glucose und Lactat können wir nicht zwangsläufig auf den Ablauf einer Glycogenolyse schließen. Wir beobachteten eine Lactatabgabe aus der Leber mit einer Korrelation von $r=-0,51$ beim Vorliegen höherer FFS-Konzentrationen, die ihrerseits die Glucoseabgabe aus der Leber verstärkten. Ob das von der Leber abgegebene Lactat aus der Glycogenolyse oder aus der durch FFS stimulierten Glucoseproduktion stammt, läßt sich bei unsere Versuchsanordnung nicht entscheiden.

Eine Gluconeogenese aus Lactat konnten wir nicht nachweisen. Den Grund sehen wir im Einfluß der FFS sowohl auf das Lactatverhalten wie auf die Glucoseproduktion. Darauf gehen wir in der Diskussion näher ein.

VI. Diskussion

Ein Großteil der Wechselbeziehungen zwischen FFS, Glucose und Lactat an der perfundierten Rattenleber lassen sich durch Angriffspunkte der FFS an den Mitochondrien erklären.

FFS werden im Zytoplasma unter ATP-Verbrauch durch Koppelung an Coenzym-A aktiviert und dann auf Carnitin übertragen, um die Mitochondrienmembran passieren zu können (7). In den Mitochondrien werden die FFS-Carnitinester wieder auf Coenzym-A unter Abspaltung von Carnitin übertragen und in den β -Oxydationszyklus eingeschleust (1). Die dabei anfallenden Reduktionsäquivalente NADH und FADH_2 verschieben das Redoxgleichgewicht in den Mitochondrien mehr auf die reduzierte Seite, was durch das Verhältnis von β -Hob und AcAc angezeigt wird (14, Abb.3). Als Endprodukt der β -Oxydation geht aktivierte Essigsäure in den Citratzyklus ein.

Der Einfluß der FFS auf das Glucose- wie auf das Lactatverhalten erklärt sich aus dem Angriff der FFS an der mitochondrialen Malatdehydrogenase. J.R. Williamson et al. konnten beweisen, daß die Richtung der mitochondrialen Malatdehydrogenase durch eine verstärkte FFS-Verbrennung umgekehrt wird, d.h. bei gesteigerter β -Oxydation entsteht im Citratzyklus vermehrt Malat aus Oxalacetat (15). Malat ist membrangängig und dient im Zytoplasma als Substrat für die zytoplasmatische Malatdehydrogenase, wobei Oxalacetat und NADH anfällt (15).

Oxalacetat ist die Schlüsselsubstanz der Gluconeogenese. Alle irekursoren der Gluconeogenese müssen erst in Oxalacetat überführt werden, um dann über die Utter'sche Phosphorylierung zur Resynthese von Glucose verwendet werden zu können. Bei gesteigerter FFS-Verbrennung fällt durch den Malatausstrom aus den Mitochondrien im Zytoplasma mittels der Malatdehydrogenase vermehrt Oxalacetat an und steht der Resynthese von Glucose zur Verfügung (15).

Von den möglichen Stoffwechselwegen, die zur Glucoseabgabe aus der Leber führen, dürfte der beschriebene in unseren Versuchen überwogen haben. Allein die FFS-Aufnahme der Leber korrelierte mit der Glucoseabgabe (Abb.10).

Daß FFS das Verhältnis von NAD und NADH im Zytoplasma mehr in Richtung NADH verschieben, ist bekannt (10,12,14). Die Erklärung liegt in dem von FFS induzierten Malatausstrom aus den Mitochondrien, da bei der folgenden Oxydation von Malat NAD erforderlich ist und NADH anfällt (15). Eine vermehrte β -Oxydation hat somit die Zunahme des zytoplasmatischen NADH-Pools zur Folge, womit für Lactat vermindert NAD zur Verfügung steht, welches zur Verstoffwechselung von Lactat nötig ist. Lactat muß erst zu Pyruvat oxydiert werden, um im Citratzyklus oder über die Gluconeogenese verwertet zu werden. Beim Vorliegen höherer FFS-Konzentrationen konnten wir eine Tendenz zur Abgabe von Lactat aus der Leber beobachten. (Abb.7). Der Lactatanstieg im Perfusionsmedium dürfte auf den in der Glycolyse anfallenden Lactatanteil zurückzuführen sein, der durch höhere FFS-Konzentrationen an der Verstoffwechselung, sprich Oxydation zu Pyruvat, gehindert wird.

Wir vermuten auch den Einfluß der FFS auf den NAD-Pool im Zytoplasma, daß wir keine Korrelation von Lactatkonzentration im Perfusionsmedium und Lactataufnahme der Leber fanden. Unterhalb eines aktuellen Redoxquotienten von 1,25 nahm die Leber bei einer Lactatkonzentration zwischen 12,8 und 96,8 mg% nahezu einheitlich Lactat auf, die FFS-Konzentration schwankte zwischen 318 und 569 μ val/l. Wir dürfen unterstellen, daß unterschiedliche FFS-Konzentrationen im Perfusionsmedium mit einem jeweils unterschiedlichen NAD-Pool im Zytoplasma einhergehen. Daß der NAD-Pool die Lactataufnahme pro Gramm nasser Leber und Stunde auch quantitativ beeinflussen könnte, erscheint logisch, da Lactat zur Weiterverarbeitung erst oxydiert werden muß. Daraus kann der Schluß gezogen werden, daß unterschiedliche FFS-Konzentrationen, bezogen auf gleiche Lactatkonzentrationen, eine quantitativ unterschiedliche Lactataufnahme der Leber bewirken (Abb.7).

Da höhere FFS-Konzentrationen einerseits die Glucoseabgabe aus der Leber stimulierten und andererseits die Lactatverwertung behinderten, konnte keine Gluconeogenese aus Lactat beobachtet werden.

VII. Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, daß mit relativ geringem Aufwand bei der Zusammenstellung des Perfusionsmediums ein befriedigender Funktionszustand der perfundierten Rattenleber erreicht wurde. Der Einfluß der FFS auf das Redoxgleichgewicht der Mitochondrien war deutlich erkennbar. Das Lactatverhalten ließ unter unseren Versuchsbedingungen keinen Rückschluß auf die Sauerstoffversorgung der Leber zu.

Als Substratspiegel wurde Lactat, Glucose, FFS und Glycerin bestimmt. Wir beobachteten den Einfluß der aktuellen FFS-Konzentration auf das Lactatverhalten und die Glucoseproduktion der Leber. Eine Gluconeogenese aus Lactat konnten wir nicht nachweisen. Den Grund dafür sahen wir im entgegengesetzten Verhalten von Lactataufnahme der Leber und Glucoseproduktion der Leber unter FFS-Einfluß. Die möglichen Mechanismen wurden diskutiert.

t (min.)	10	20	35	45	60	75	90	100
Quantitativer Umrechnungs- faktor 10^{-2}	95	90	85	80	75	70	65	60
Lactat mg%	21,5	24,2	25,2	25,6	22,8	23,6	24,5	20,8
Δ Lactat mg%		-2,7	- 1	-0,4	+2,8	-0,8	-0,9	+3,7
Δ Lactat mg		-2,43	-0,85	-0,32	+2,1	-0,56	-0,59	+2,22
Δ Lactat $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-1,52	-0,35	-0,2	+0,88	-0,23	-0,24	+1,38
Glucose mg%	162,3	168,8	176,5	184,8	175,7	183,4	191,5	—
Δ Glucose mg%		-6,5	-7,7	-8,3	+9,1	-7,7	-8,1	
Δ Glucose mg		-5,85	-6,55	-6,62	+6,82	-5,4	-5,27	
Δ Glucose $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-3,65	-2,73	-4,15	+2,85	-2,25	-2,2	
AcAc $\mu\text{mol/l}$	76	121,6	159,6	250,8	387,6	410,4	501,5	463,5
B-Hob $\mu\text{mol/l}$	182,4	349,6	554,7	820,7	980,3	1269	1261,4	1345
Redoxquotient	2,4	2,87	3,47	3,27	2,53	3,1	2,51	2,9

Tab.1 Versuch Nr.7, Lebergewicht 9,6 g

+ Aufnahme durch die Leber
- Abgabe durch die Leber

Zusatz: 5 mg% Lactat

t (min.)	10	30	40	60	70	90	105
Quantitativer Umrechnungsfaktor 10^{-2}	95	90	85	80	75	70	65
Lactat mg%	32,6	35,5	33,4	45,2	27,3	36,0	42,3
Δ Lactat mg%		-2,9	+2,1		+17,9	-8,7	-6,3
Δ Lactat mg		-2,61	+1,82		+12,5	-6,09	-4,1
Δ Lactat $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-1,17	+1,6		+11,2	-2,23	-2,44
Glucose mg%	129,2	136,2	138,7	139,2	138,7	135,6	140,6
Δ Glucose mg%		-7,0	-2,5		+0,5	+3,1	-5,0
Δ Glucose mg		-6,3	-2,15		+0,38	+2,17	-3,25
Δ Glucose $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-2,82	-1,9		+0,34	+0,97	-1,94
AcAc $\mu\text{mol/l}$	60,8	38	60,8	68,4	83,6	91,2	91,2
B-Hob $\mu\text{mol/l}$	30,4	91,2	106,4	220,4	159,6	167,2	516,7
Redoxquotient	0,5	2,4	1,75	3,22	1,91	1,92	5,7

Tab.2 Versuch Nr.10, Lebergewicht 6,7 g

- + Aufnahme durch die Leber
- Abgabe durch die Leber

Zusatz: 50 mg% Lactat

t (min.)	15	30	40	55	65	85	100
Quantitativer Umrechnungsfaktor 10^{-2}	95	90	85	80	75	70	65
Lactat mg%	21,6	21,9	19,5	58,9	56,8	58,2	60,5
Δ Lactat mg%		-0,3	+2,4		+2,1	-1,4	-2,3
Δ Lactat mg		-0,27	+2,03		+1,57	-0,98	-1,49
Δ Lactat $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-0,11	+1,23		+0,95	-0,3	-0,62
Glucose mg%	180,5	198,2	241,9	234,9	232,4	251,4	257,8
Δ Glucose mg		-17,7	-43,7		+2,5	-19,0	-6,4
Δ Glucose mg		-15,9	-37,1		+1,87	-13,3	-4,16
Δ Glucose $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-6,42	-22,5		+1,14	-4,02	-1,68
AcAc $\mu\text{mol/l}$	30,4	152	205,2	182,4	880	592,7	782,7
B-Hob $\mu\text{mol/l}$	531,9	782,7	995,5	987,9	1010,7	1018,3	1086,7
Redoxquotient	17,5	5,02	4,85	5,42	2,67	1,72	1,38

Tab. 3 Versuch Nr. 11, Lebergewicht 9,9 g

+ Aufnahme durch die Leber

- Abgabe durch die Leber

Zusatz: 50 mg% Lactat

t (min.)	10	30	40	50	60	75
Quantitativer Umrechnungsfaktor 10^{-2}	95	90	85	80	75	70
Lactat mg%	Reaktion läuft nicht					
Glucose mg%	146,4	165,9	195,7	213,6	224,2	245,7
Δ Glucose mg%		-19,5	-29,8		-10,6	-21,5
Δ Glucose mg		-17,6	-25,3		-7,95	-15,1
Δ Glucose $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-5,62	-16,3		-5,1	-4,8
AcAc $\mu\text{mol/l}$	76	243,2	304	402,8	387,6	418
B-Hob $\mu\text{mol/l}$	585,1	759,9	820,7	691,5	972,7	1003,1
Redoxquotient	7,7	3,12	2,72	1,72	2,51	2,41

Tab.4 Versuch Nr.12, Lebergewicht 9,35 g

- + Aufnahme durch die Leber
- Abgabe durch die Leber

Zusatz: 50 mg% Lactat

t (min)	10	30	40	50	60	80	90
Quantitativer Umrechnungs- faktor 10^{-2}	95	90	85	80	75	70	65
Lactat mg%	45,9	46,6	49	101,2	96,8	90,4	72,5
Δ Lactat mg%		-1,1	-2,4		+4,4	+6,4	+17,9
Δ Lactat mg		-0,99	-2,04		+3,3	+4,5	+11,6
Δ Lactat $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-0,42	-1,76		+2,85	+1,94	+10,3
Glucose mg%	161,2	205,2	206,9	219,1	233,9	261,6	266,9
Δ Glucose mg%		-44	-1,7		-14,8	-27,7	-5,3
Δ Glucose mg		-39,6	-1,43		-11,1	-19,4	-3,44
Δ Glucose $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-17,1	-1,25		-9,6	-8,37	-2,97
AcAc $\mu\text{mol/l}$	182,4	380	509,1	607,9	851	805,5	896,7
B-Hob $\mu\text{mol/l}$	661,1	965,1	942,3	896,7	1003,1	851	820,7
Redoxquotient	3,63	2,54	1,85	1,48	1,17	1,05	0,92

Tab.5 Versuch Nr.13, Lebergewicht 6,95 g

+ Aufnahme durch die Leber

- Abgabe durch die Leber

Zusatz: 50 mg% Lactat

t (min.)	15	30	40	50	60	80	90
Quantitativer Umrechnungs- faktor 10^{-2}	95	90	85	80	75	70	65
Lactat mg%	31,5	29,4	29,5	74,3	48,2	38,9	34,1
Δ Lactat mg%		+2,1	-0,1		+26,1	+9,3	+4,8
Δ Lactat mg		+1,85	-0,09		+19,6	+6,51	+3,12
Δ Lactat $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		+0,98	-0,07		+15,2	+2,53	+2,43
Glucose mg%	114,7	209,7	216,7	223,3	217,3	229,2	231,4
Δ Glucose mg%		-15	-7		+3	-11,9	-2,2
Δ Glucose mg		-13,5	-5,95		+4,5	-8,33	-1,43
Δ Glucose $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-7,03	-4,64		+3,5	-3,25	-1,11
AcAc $\mu\text{mol/l}$	372,4	387,6	623,1	721,9	813,1	927,1	1086,7
β -Hob $\mu\text{mol/l}$	706,7	699,1	759,9	729,5	568,7	813,1	767,5
Redoxquotient	1,9	1,8	1,22	1,01	0,84	0,86	0,71

Tab.6 Versuch Nr.14, Lebergewicht 7,7 g

+ Aufnahme durch die Leber

- Abgabe durch die Leber

t (min)	10	30	40	50	60	80	90
Quantitativer Umrechnungsfaktor Lactat, Glucose 10^{-2}							
FFS, Glycerin 10^{-3}	95	90	85	80	75	70	65
FFS $\mu\text{val/l}$	752	610	658	549	468	—	—
Mittlere FFS $\mu\text{val/l}$	681	634	603,5	508,5			
$\Delta\text{FFS } \mu\text{val/l}$		+142	-48	+109	+81		
$\Delta\text{FFS } \mu\text{val}$		+12,8	-4,08	+8,71	+6,09		
$\Delta\text{FFS } \frac{\mu\text{val}}{\text{g h}}$		+5,25	-3,35	+7,18	+5		
Glycerin $\mu\text{mol/l}$	63,6	84,1	85,6	105,6	104,2	103,2	116,7
$\Delta\text{Glycerin } \mu\text{mol/l}$		-20,5	-1,5	-20	+1,4	+1	-13,5
$\Delta\text{Glycerin } \mu\text{mol}$		-1,84	-0,13	-1,6	+0,11	+0,07	-0,88
$\Delta\text{Glycerin } \frac{\mu\text{mol}}{\text{g h}}$		-0,758	-0,105	-1,31	-0,865	+0,29	-0,723
Lactat mg%	64,1	62,4	66,4	61,1	58	52,5	52,6
$\Delta\text{Lactat mg\%}$		+1,7	-4	+5,3	+3,1	+5,5	-0,1
$\Delta\text{Lactat mg}$		+1,53	-3,4	+4,34	+2,32	+3,85	-0,065
$\Delta\text{Lactat } \frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		+0,63	-2,79	+3,56	+1,91	+1,58	-0,05
Glucose mg%	112,8	149,6	179	187,5	198,5	207,8	215,1
$\Delta\text{Glucose mg\%}$		-36,8	-29,4	-8,4	-11,1	-9,3	-7,3
$\Delta\text{Glucose mg}$		-33,2	-25	-6,7	-8,3	-6,5	-4,75
$\Delta\text{Glucose } \frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-13,64	-20,55	-5,51	-6,82	-2,67	-3,9
AcAc $\mu\text{mol/l}$	91,2	136,8	220,4	266	433,1	570	699,1
B-Hob $\mu\text{mol/l}$	167,2	471,1	592,7	873,9	562,3	539,5	531,9
Redoxquotient	1,83	3,44	2,68	3,28	1,3	0,95	0,71

Tab.7 Versuch Nr.18, Lebergewicht 7,3 g

+ Aufnahme durch die Leber

- Abgabe durch die Leber

t (min.)	10	30	40	50	60	80	90
Quantitativer Umrechnungs- faktor 10^{-2}	95	90	85	80	75	70	65
Lactat mg%	58,9	50,6	44,3	39,8	38,6	34,2	32,5
Δ Lactat mg%		+8,2	+6,3	+4,5	+1,2	+4,4	+1,7
Δ Lactat mg		+7,38	+5,35	+3,6	+0,9	+3,08	+1,12
Δ Lactat $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		+2,22	+3,21	+2,16	+0,54	+0,92	+0,67
Glucose mg%	123,2	155,7	171,8	182,5	189,4	201,7	206,2
Δ Glucose mg%		-32,5	-15,9	-10,7	-6,9	-12,3	-4,5
Δ Glucose mg		-29,3	-13,5	-8,56	-5,18	-8,61	-2,93
Δ Glucose $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-8,78	-8,1	-5,14	-3,1	-2,58	-1,76
AcAc $\mu\text{mol/l}$	190	493,9	547,1	623,1	576,3	1033,5	1094,3
β -Hob $\mu\text{mol/l}$	607,9	820,7	1101,9	1094,3	1162,7	1215,8	1322,3
Redoxquotient	3,2	1,68	2,02	1,75	1,72	1,18	1,21

Tab.8 Versuch Nr.19, Lebergewicht 10,0 g

+ Aufnahme durch die Leber

- Abgabe durch die Leber

t (min.)	10	30	40	50	60	80	90
Quantitativer Umrechnungsfaktor Lactat, Glucose 10^2 FFS, Glycerin 10^{-5}							
FFS / $\mu\text{val/l}$	530,5	349,5	377	427,5	377	445	518
mittlere FFS / $\mu\text{val/l}$	440	363	402	402	411	481	515
$\Delta\text{FFS} / \mu\text{val/l}$		+151	-27,5	-40,5	+27,5	-68	-73
$\Delta\text{FFS} / \mu\text{val}$		+13,6	-2,34	-3,24	+2,06	-4,86	-4,75
$\Delta\text{FFS} / \frac{\mu\text{val}}{\text{g h}}$		+4,08	-1,4	-1,94	+1,24	-1,48	-2,85
Glycerin / $\mu\text{mol/l}$	55,6	62,1	63,1	71,1	85,1	102,7	103,7
$\Delta\text{Glycerin} / \mu\text{mol/l}$		-6,5	-1	-8	-14	-17,6	-1
$\Delta\text{Glycerin} / \mu\text{mol}$		-0,59	-0,09	-0,64	-1,05	-1,23	-0,07
$\Delta\text{Glycerin} / \frac{\mu\text{mol}}{\text{g h}}$		-0,176	-0,051	-0,384	-0,63	-0,369	-0,039
Lactat mg%	30,2	32,2	—	28	26,2	25,9	23,4
$\Delta\text{Lactat mg\%}$		-2		+4,2	+1,8	+0,3	+2,5
$\Delta\text{Lactat mg}$		-1,8		+3,36	+1,35	+0,21	+1,66
$\Delta\text{Lactat} \frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-0,54		+1,01	+0,81	+0,06	+1,0
Glucose mg%	141,3	192,6	204,4	208,5	228,6	247,1	249
$\Delta\text{Glucose mg\%}$		-61,3	-11,8	-4,1	-20,1	-18,5	-1,9
$\Delta\text{Glucose mg}$		-55,2	-10	-3,28	-15	-12,9	-1,24
$\Delta\text{Glucose} \frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-46,55	-6	-0,98	-9,01	-3,89	-0,74
AcAc / $\mu\text{mol/l}$	174,8	455,9	509,1	767,5	623,2	752,3	980,3
B-Hob / $\mu\text{mol/l}$	418	645,9	516,7	516,7	455,9	585,1	607,9
Redoxquotient	2,39	1,42	1,01	0,67	0,74	0,78	0,62

Tab.9 Versuch Nr.22, Lebergewicht 10,0 g

+ Aufnahme durch die Leber
- Abgabe durch die Leber

t (min.)	10	30	40	50	60	80	90
Quantitativer Umrechnungsfaktor Lactat, Glucose 10^2							
FFS, Glycerin 10^{-3}	95	90	85	80	75	70	65
FFS $\mu\text{val/l}$	373,5	318	347	351	389	435	426
mittlere FFS $\mu\text{val/l}$	346	332,5	349	370	412	426	
$\Delta\text{FFS } \mu\text{val/l}$		+55,5	-29	-4	-38	-46	+9
$\Delta\text{FFS } \mu\text{val}$		+5	-2,46	-0,32	-2,85	-3,22	+0,59
$\Delta\text{FFS } \frac{\mu\text{val}}{\text{g h}}$		+1,64	-1,62	-0,21	-1,87	-1,06	+0,19
Glycerin $\mu\text{mol/l}$	40,6	68,6	83,6	95,7	99,7	114,2	131,2
$\Delta\text{Glycerin } \mu\text{mol/l}$		-28	-15	-12,1	-4	-14,5	-17
$\Delta\text{Glycerin } \mu\text{mol}$		-2,52	-1,27	-0,97	-0,3	-1,02	-1,11
$\Delta\text{Glycerin } \frac{\mu\text{mol}}{\text{g h}}$		-0,83	-0,35	-0,28	-0,197	-0,335	-0,76
Lactat mg%	33,8	25,3	20,5	17,9	17,6	—	15,6
$\Delta\text{Lactat mg\%}$		+8,5	+4,8	+2,6	+0,3		+2
$\Delta\text{Lactat mg}$		+7,65	+4,08	+2,07	+0,23		+1,3
$\Delta\text{Lactat } \frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		+2,52	+2,67	+1,37	+0,15		+0,3
Glucose mg%	141,3	169,1	172,2	175,4	173,5	175,5	179,5
$\Delta\text{Glucose mg\%}$		-27,8	-3,1	-3,2	+1,9	-2	-4
$\Delta\text{Glucose mg}$		-25	-2,63	-2,56	+1,42	-1,4	-2,6
$\Delta\text{Glucose } \frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-8,2	-1,73	-1,68	+0,94	-0,46	-1,71
AcAc $\mu\text{mol/l}$	129,2	562,3	486,3	775,1	805,5	1071,5	1094,3
B-Hob $\mu\text{mol/l}$	440,7	592,7	547,1	471,1	478,7	547,1	554,7
Redoxquotient	3,4	1,05	1,12	0,61	0,59	0,51	0,51

Tab.10 Versuch Nr.23, Lebergewicht 9,12 g

+ Aufnahme durch die Leber
 - Abgabe durch die Leber

t (min.)	10	30	40	50	60	80	90
Quantitativer Umrechnungsfaktor							
Lactat, Glucose 10^{-2}							
FFS, Glycerin 10^{-3}	95	90	85	80	75	70	65
FFS / uval/l	705	605	558	542	535	—	569
mittlere FFS / uval/l	655	582	550	538		552	
Δ FFS / uval/l		+100	+47	+16	+7		-34
Δ FFS / uval		+9	+3,99	+1,28	+0,49		-2,21
Δ FFS / $\frac{\text{uval}}{\text{g h}}$		+4,1	+3,64	+1,17	+0,45		-0,67
Glycerin / $\mu\text{mol/l}$	46,1	61,6	72,6	81,1	84,1	96,7	97,7
Δ Glycerin / $\mu\text{mol/l}$		-15,5	-11	-8,5	-3	-12,6	-1
Δ Glycerin / μmol		-1,4	-0,94	-0,68	-0,25	-0,88	-0,07
Δ Glycerin / $\frac{\mu\text{mol}}{\text{g h}}$		-0,638	-0,852	-0,621	-0,227	-0,402	-0,059
Lactat mg%	38,1	40,4	42,6	46,7	45,2	46,8	47
Δ Lactat mg%		-2,3	-2,4	-3,9	+1,5	-1,6	-0,2
Δ Lactat mg		-2,07	-2,04	-3,12	+1,13	-1,12	-0,13
Δ Lactat $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-0,95	-1,86	-2,84	+1,01	-0,51	-0,12
Glucose mg%	122,7	163,4	180,8	199,1	196,9	217,8	224,5
Δ Glucose mg%		-30,7	-17,4	-18,3	+2,2	-20,9	-6,7
Δ Glucose mg		-27,6	-14,8	-14,6	+1,65	-14,6	-4,36
Δ Glucose $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		-12,55	-13,45	-13,3	+1,55	-6,65	-3,97
AcAc / $\mu\text{mol/l}$	319,2	227,9	311,6	273,6	288,8	448,3	638,3
β -Hob / $\mu\text{mol/l}$	167,1	387,6	478,7	478,7	539,5	623,1	638,3
Redoxquotient	0,53	1,7	1,54	1,75	1,86	1,39	1,0

Tab. 11 Versuch Nr. 25, Lebergewicht 6,59 g

+ Aufnahme durch die Leber
 - Abgabe durch die Leber

t (min.)	10	30	40	50	60	80	90
Quantitativer Umrechnungsfaktor Lactat, Glucose 10^{-2}							
FFS, Glycerin 10^{-3}	95	90	85	80	75	70	65
FFS /val/l	618	552	535	494	449	438	441
mittlere FFS /val/l	585	543,5	515,5	471,5	443,5	439,5	
Δ FFS /uval/l		+66	+17	+39	+45	+11	-3
Δ FFS /uval		+5,95	+1,44	+3,12	+3,87	+0,77	-0,2
Δ FFS $\frac{\text{uval}}{\text{g h}}$		+3	+1,46	+3,18	+3,94	+0,39	-0,2
Glycerin / $\mu\text{mol/l}$	Reaktion läuft nicht						
Lactat mg%	32,6	30	29,3	26,2	23,6	15,8	12,1
Δ Lactat mg%		+2,6	+0,7	+3,1	+2,6	+7,8	+3,7
Δ Lactat mg		+2,34	+0,6	+2,48	+1,95	+5,47	+2,41
Δ Lactat $\frac{\text{mg}}{\text{g h}}$		+1,19	+0,61	+2,53	+0,97	+2,78	+2,45
AcAc / $\mu\text{mol/l}$	38	114	258,4	288,8	342	615,5	683,9
B-Hob / $\mu\text{mol/l}$	83,6	273,6	402,8	494	486,4	448,3	364,8
Glucose mg%	Reaktion läuft nicht						
Redoxquotient	2,2	2,4	1,56	1,71	1,42	0,73	0,53

Tab.12 Versuch Nr.26, Lebergewicht 5,9 g

- + Aufnahme durch die Leber
- Abgabe durch die Leber

IX.Literaturverzeichnis

1.Bode,Ch. und M.Klingenberg:

Die Veratmung von Fettsäuren in isolierten Mitochondrien.

Biochem.Z. 341,271,(1965)

2.Clark,C.M. and R.O.Scow:

Effects of fasting and hypophysectomy on FFA uptake and ketone body production by the isolated, perfused rat liver.

Diabetes 12,924, (1970)

3.Dieterle,P.,C.Wülfert-Heldrich,J.Henner und K.Schwarz:

Erfahrungen mit einer kolorimetrischen Methode zur Bestimmung der nicht veresterten Fettsäuren im Serum.

Z.klin.Chem.Biochem. 5,153,(1968)

4.Duncombe,W.G.:

The colorimetric determination of nonesterified fatty acids in plasma.

Clin.Chem.Acta 9,122,(1964)

5.Glogner,P. und H.J.Schurek:

Messung der Glucoseoxydation an der isolierten perfundierten Rattenleber mit Glucose-6-H³.

Z.klin.Chem.Biochem. 7,590,(1969)

6.Hohorst,H.J.:

L-Lactat. Bestimmung mit Lactatdehydrogenase und DPN.

In: H.U.Bergmeyer, Methoden der enzymatischen Analyse,266,(1962)

7.Karlson,P.:

Kurzes Lehrbuch der Biochemie
Georg Thieme Verlag,(1967)

8.Kreutz,F.H.:

Enzymatische Glycerinbestimmung
Klin.Wschr. 50,362,(1962)

9.Mellanby,J. und D.H.Williamson:

Acetacetat. Bestimmung mit β -Hydroxybutyrat-
dehydrogenase und DPNH.
In: H.U.Bergmeyer, Methoden der enzymatischen
Analyse,1777,(1962)

10.Menahan,L.A. and O.Wieland:

The role of endogenous lipid in gluconeoge-
nesis and ketogenesis of perfused rat liver.
Europ.J.Biochem. 9,182,(1969)

11.Milton W.Slein:

D-Glucose. Bestimmung mit Hexokinase und
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase.
In: H.U.Bergmeyer, Methoden der enzymatischen
Analyse,117,(1962)

12.Teufel,H.,L.H.Menahan,J.C.Shipp,S.Böning and O.Wieland:

Effect of oleic acid on the oxydation and
gluconeogenesis from $1-C^{14}$ -pyruvate in the
perfused rat liver.
Europ.J.Biochem. 2,182,(1967)

13.Weniges:

Krebs-Ringer-Bicarbonat-Lösung
Klin.Wschr. 39,238,(1961)

14. Williamson, J.R., E.T. Browning, R.G. Thurman and R. Scholz:
Inhibition of glucagon effects in perfused rat
liver by (+)decanylecarnitine.
J. Biochem. Chem. 244 (18), 5055, (1969)
15. Williamson, J.R., J. Anderson and E.T. Browning:
Inhibition of gluconeogenesis by butylmalonate
in perfused rat liver.
J. Biol. Chem. 2, 1717, (1970)
16. Williamson, D.H. and J. Mellanby:
 β -Hydroxybutyrate. Bestimmung mit β -Hydroxy-
butyrate dehydrogenase und DPH.
In: H.U. Bergmeyer, Methoden der enzymatischen
Analyse, 1772, (1962)

Herrn Chefarzt Priv.Doiz.Dr.P.Dieterle danke
ich für die Überlassung desThemas und die
zahlreichen Hilfestellungen.

Dank schulde ich Herrn H.J.Henner und
Frl.H.Vaitl, die mir bei der experimentellen
Arbeit behilflich waren.

Lebenslauf

Am 16.9.1946 wurde ich in München als Sohn des Sportredakteurs Ludwig Koppenwallner und seiner Ehefrau Franziska, geb. Graf, geboren. Die Volksschule und das Gymnasium besuchte ich in München, wo ich 1967 am Klenze-Gymnasium das Abitur ablegte.

Im Sommersemester 1968 begann ich das Medizinstudium an der Universität München. Dort bestand ich im September 1970 das Physikum und im Dezember 1973 das Staatsexamen. Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistent an der II.Medizinischen Klinik der Universität München.

